

Proizvodnja gljive *Ganoderma lucidum*

- Originalan naučni rad -

Anita KLAUS i Miomir NIKŠIĆ

Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Beograd-Zemun

Izvod: U ovom radu prikazana su istraživanja mogućnosti gajenja medicinski važne gljive *Ganoderma lucidum* pod laboratorijskim i poluindustrijskim uslovima. Dobijeni rezultati pokazuju da micelijumi ispitivanih izolata pri laboratorijskim uslovima rastu 9,2-13,5 mm dnevno, na temperaturi od 25°C. Poluindustrijski gajena plodonosna tela gljive *Ganoderma lucidum* su sazrela 55-60 dana od momenta zasejavanja supstrata. Pod poluindustrijskim uslovima odgajena je i gljiva *Ganoderma lucidum* koja ima formu tzv. "jelenskih rogova", čija su plodonosna tela potpuno formirana za 25 dana.

Ključne reči: Fruktifikacija, *Ganoderma lucidum*, lekovite gljive.

Uvod

Mnoge vrste gljiva su vekovima u raznim civilizacijama širom sveta bile cenjene kao ukusne i hranljive namirnice. Imale su značajnu ulogu u ljudskoj istoriji kao hrana, otrov, lek, u folkloru, legendama i religiji, *Molitoris*, 2001. Do danas su izvršena mnoga ispitivanja koja su pokazala da više od 270 vrsta gljiva ima vrlo različita farmakološka dejstva. Sistematskim naučnim istraživanjima koja su obavljena poslednjih tridesetak godina, posebno u Japanu, Kini i Koreji, potvrđen je niz tradicionalnih primena lekovitih gljiva, a razvijene su i nove mogućnosti primene. Iako je pažnja uglavnom bila usmerena na različita imunološka i antikancerogena svojstva ovih gljiva, utvrđeno je da one, takođe, imaju i druga interesantna terapijska svojstva, jer mogu da deluju i kao antioksidanti, antihipertenzivne supstance, snižavaju holesterol, štite jetru, pokazuju antiinflamatorna, antidijabetska, antivirusna i antimikrobna svojstva, *Smith i sar.*, 2002.

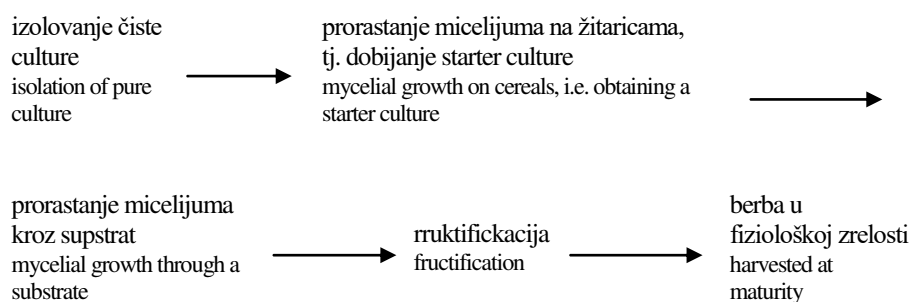
Poslednjih godina se oko 35 vrsta gljiva gaji komercijalno, od toga oko 20 vrsta u industrijskim razmerama, a najveći broj ovih gljiva pored toga što su jestive imaju i odgovarajuća medicinska svojstva. Gljive sa lekovitim svojstvima imaju

značajno mesto u tradicionalnoj medicini i tretiranju različitih bolesti i zdravstvenih problema upravo zahvaljujući i različitim mogućnostima za njihovo gajenje, **Smith i sar.**, 2002.

Jedna od najčešće korišćenih gljiva u tradicionalnoj medicini naroda dalekog istoka je *Ganoderma lucidum*. U Japanu ova gljiva se zove Reishi ili Mannentake, gljiva 10000 godina. U Kini i Koreji poznata je kao Ling Chi, Ling Chih ili Ling Zhi, gljiva besmrtnosti. Najstariji pisani podaci o korišćenju gljive *Ganoderma lucidum* stari su više od dva milenijuma.

Rod *Ganoderma* ustanovio je Karsten 1881. godine i u njega uvrstio lakirane, čvrste gljive *Polyporus lucidus* W. Curt koje se mogu naći širom sveta kao gljive koje izazivaju truljenje, **Hseu at al.**, 1997. Najpoznatija gljiva iz ovog roda je *Ganoderma lucidum*, hrastova sjajnica, koju su ljudi gajili još pre više od dve hiljade godina, **Ting**, 1997.

Do danas su razvijeni različiti metodi gajenja ove gljive, ali se najčešće gaji na mešavini dobijenoj od različitih komponenata kao što su strugotina, piljevina, slama, pirinčane ili pšenične mekinje. Često se gaji i na položenim oblicama ili inokulacija panjeva, **Stamets**, 1993. Pri svakom načinu gajenja neophodno je prvo odgajiti zdrav micelijum koji će pod odgovarajućim uslovima moći da obraste supstrat i da formira plodonosna tela. Pri gajenju ove gljive pod industrijskim uslovima neophodno je ispoštovati sledeće osnovne faze (Šema 1):



Šema 1. Osnovne faze u industrijskom gajenju gljive *Ganoderma lucidum*
Basic phases in industrial growing of the mushroom *Ganoderma lucidum*

Materijal i metode

Prema raspoloživim podacima različiti sojevi gljive *Ganoderma lucidum* mogu da se nađu u šumama širom Srbije, što je vrlo značajno s obzirom na medicinska svojstva ove gljive. Uzorci GL-I, K₁, K₂, K₃, B₁, B₂ i B₃ prikupljeni su u Košutnjaku i Bojčinskoj šumi, a pronađeni su na korenju i panjevima hrasta; uzorak GL-K je iz Kine. Ovi uzorci korišćeni su za izdvajanje čiste kulture.

Kao podloga za laboratorijsko gajenje ove gljive korišćen je sladni agar, koji je pravljen tako što je nezahmeljena sladovina profiltrirana i zatim razređena

destilovanom vodom do 40° Ekslovih ili 10° Bomeovih; pH je podešen na 7 dodavanjem NaOH. Na kraju je dodato 2% agara, pa je ovako pripremljena podloga uz mešanje pažljivo zagrejana do ključanja, da se potpuno rastvori i sterilisana u autoklavu 15 min., pri p=1.1 bar i t=121°C. Ovako pripremljena podloga je ohlađena do 45°C i razlivena pod sterilnim uslovima u Petri kutije. Na svežu podlogu zasejana je kultura tkiva gljive *Ganoderma lucidum*. Izdvojene čiste kulture gljive *Ganoderma lucidum* čuvane su na zakošenom sladnom agaru na 2-4°C.

Za gajenje većih količina micelijuma korišćena su sterilna zrna pšenice kao nosač. Zrna pšenice su kuvana oko 1h, ohlađena i zatim im je dodat CaSO₄ da bi posle sterilizacije ostala razdvojena, da bi se obezbedila dovoljna količina Ca i S i podesio pH. Ovako pripremljena zrna žitarica su sterilisana u teglama 2h na t=121°C i posle hlađenja inokulisana čistom tkivnom kulturom gljive *Ganoderma lucidum*. Posle 14-21 dan na 25°C zrna pšenice su potpuno prorasla micelijumom. Ovako dobijen micelijum na zrnima pšenice korišćen je kao matična kultura za inokulaciju većih količina zrna pšenice.

Za proizvodnju plodonosnih tela korišćena je mešavina pšenične slame, hrastove piljevine i pšeničnih mekinja i to u odnosu 7:2:1. Korišćena je sitna piljevina jer se ona lakše razgrađuje (piljevina ne sme da bude suviše sitna jer otežava razmenu gasova); slama je iseckana na komade dužine oko 3 cm. Ovakva mešavina potoljena je u vodu, 24h, da se dobro namoči, što je neophodno za pravilan rast micelijuma. Posle ceđenja postignuta je vlaga supstrata od 60%. Odgovarajuća mešavina je spakovana u termorezistentne polipropilenske vreće koje su zatvorene zapušačima od celulozne vate i sterilisane 2 h u autoklavu na 121°C pri pritisku 1,1 bar.

Posle sterilizacije vreće ohlađene u laminarnoj komori su zasejane po površini matičnom kulturom gljive *Ganoderma lucidum* i ostavljene na inkubiranje na 25°C.

Da bi se proizvela plodonosna tela sa formom "jelenski rogovi" korišćene su tegle od 5 kg koje su do polovine napunjene supstratom i pokrivene filter papirom, sterilisane 2 h u autoklavu na 121°C pri pritisku 1,1 bar, a posle hlađenja zasejane matičnom kulturom gljive *Ganoderma lucidum* i ostavljene na inkubiranje na 25°C.

Rezultati i diskusija

Brzina rasta micelijuma na sladnom agaru pod laboratorijskim uslovima. Čista kultura gljive *Ganoderma lucidum* izdvojena je iz plodonosnog tela tkivnom kulturom. Pod sterilnim uslovima, u laminarnoj komori, komadić plodonosnog tela prenet je na sladni agar i ostavljen da se inkubira na 25°C. Posle 7-10 dana micelijum je potpuno pokrio agar u Petri kutiji. Praćena je brzina rasta micelijuma različitih sojeva gljive *Ganoderma lucidum* na sladnom agaru a neki od dobijenih rezultata su prikazani u Tabeli 1.

Prorastanje micelijuma posmatranih izolata na t=25°C počinje 24h od zasejavanja agara. Soj B₁ je pokazao najbrži i ujednačen rast, tj. za sedam dana je potpuno pokrio podlogu u Petri kutiji, a prosečna dnevna brzina rasta je bila 12,86 mm. Soj Gl-I je prerastao Petri kutiju za osam dana, rast mu je bio neujednačen, a

Tabela 1. Prosečna brzina rasta izolata Gl-I, K₂ i B₁ na sladnom agaru na t=25°C
Average Growth Rate of Isolates Gl-I, K₂ and B₁ on Malt Agar at t=25°C

Dani Days	Oznaka izolata - Designation of isolates					
	Gl-I		K ₂		B ₁	
	dnevni rast (mm) daily growth	ukupan rast (mm) total growth	dnevni rast (mm) daily growth	ukupan rast (mm) total growth	dnevni rast (mm) daily growth	ukupan rast (mm) total growth
1	9,8	9,8	9,2	9,2	12,8	12,8
2	10,3	20,1	9,6	18,8	12,6	25,4
3	10,5	30,6	9,7	28,5	13,1	38,5
4	12,2	42,8	10,1	38,6	13,5	52
5	13,6	56,4	10,3	48,9	12,8	64,8
6	12,9	69,3	10,00	58,9	12,7	77,5
7	10,00	79,3	11,7	70,6	12,5	90,00
8	10,7	90,00	9,3	79,9		
9			10,1	90,00		

prosečna dnevna brzina rasta je bila 11,25 mm. Soj K₂ je rastao devet dana do potpunog pokrivanja podloge u Petri kutiji, sa neujednačenim rastom i prosečnom dnevnom brzinom rasta od 10,00 mm. Dobijeni rezultati pokazuju da micelijumi ispitivanih izolata pokazuju sličnu brzinu rasta na temperaturi od 25°C, a da je dnevni rast pod ovim uslovima 9,2-13,5 mm, *Klaus*, 2004.

Brzina rasta micelijuma na zrnima žita pod laboratorijskim uslovima.

Praćena je brzina rasta micelijuma različitih sojeva gljive *Ganoderma lucidum* na zrnima žita u teglama, a neki od dobijenih rezultata su prikazani u Tabeli 2.

Sojevi Gl-I i B₁ su potpuno prorasli zrna žita u teglama za 21 dan, sa prosečnom dnevnom brzinom rasta od 4,76 mm. Soj K₂ je pokazao prosečnu dnevnu brzinu rasta od 5,55 mm i potpuno prorastao zrna žita za 18 dana. Dobijeni rezultati

Tabela 2. Prosečna brzina rasta izolata Gl-I, K₂ i B₁ na pšenici na t=25°C
Average Growth Rate of Isolates Gl-I, K₂ and B₁ on wheat at t=25°C

Dani Days	Oznaka izolata - Designation of isolates					
	Gl-I		K ₂		B ₁	
	dnevni rast (mm) daily growth	ukupan rast (mm) total growth	dnevni rast (mm) daily growth	ukupan rast (mm) total growth	dnevni rast (mm) daily growth	ukupan rast (mm) total growth
3	14	14	16,3	16,3	12,1	12,1
6	15,8	29,8	14,3	30,6	14,7	26,8
9	16,2	46	17,1	47,7	17,2	44
12	14,4	60,4	17,3	65	14,9	58,9
15	13,2	73,6	18,5	83,5	16,3	75,2
18	14,6	88,2	16,5	100	12,3	87,5
21	11,8	100			12,5	100

pokazuju da micelijumi ispitivanih izolata sličnom brzinom prorastaju zrna žita na temperature od 25°C, a da je dnevni rast pod ovim uslovima 3,93-6,2 mm, **Klaus**, 2004.

Brzina rasta plodonosnih tela na supstratu. Kao supstrat za gajenje plodonosnih tela gljive *Ganoderma lucidum* korišćena je mešavina pšenične slame, piljevine hrasta i pšeničnih mekinja i to u odnosu 7:2:1. Ovakav supstrat je sterilisan i zasejan sa oko 3% matične kulture. Posle 20 dana micelijum je potpuno prorastao supstrat u vrećama i počelo je formiranje primordijuma, a zatim i plodonosnih tela. Kada je micelijum potpuno prorastao supstrat vreće su otvorene i na sobnoj temperaturi orošavane svakog dana. Od momenta otvaranja vreća do formiranja primordijuma prošlo je 12-17 dana, a do potpunog formiranja plodonosnih tela 35-40 dana, **Klaus**, 2004, (Tabela 3).

Tabela 3. Brzina formiranja plodonosnih tela različitih izolata gljive *Ganoderma lucidum*
Growth rate of different isolates of mushroom *Ganoderma lucidum*

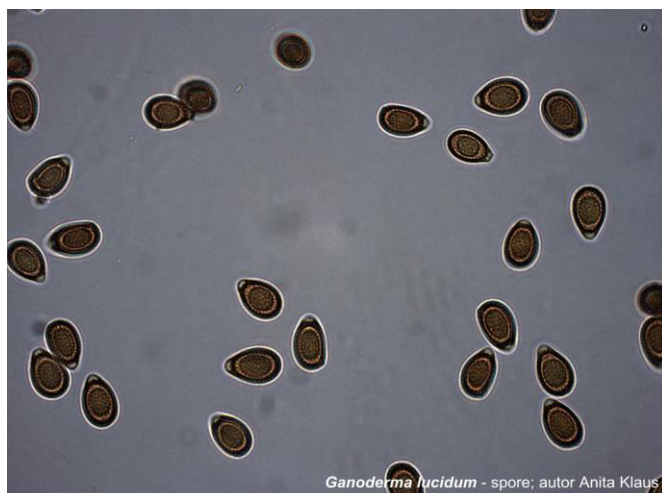
Gljiva Isolate	Formiranje primordijuma (dani) Primordia formation (days)	Fruktifikacija (dani) Fructification (days)
GL-I	12	35
K ₁	14	37
K ₂	13	38
K ₃	14	36
B ₁	16	39
B ₂	17	40
B ₃	17	40

Formiranje primordijuma je prvo započelo kod izolata GL-I, zatim kod izolata K₁, K₃ i K₂ i na kraju i kod izolata B₂, B₃ i B₁. Shodno tome i formiranje plodonosnih tela je završeno prvo kod izolata GL-I, nekoliko dana kasnije kod izolata K₃, K₁ i K₂ i na kraju i kod izolata B₁, B₂ i B₃. Prema tome, pokazalo se da je na supstratu sastavljenom od pšenične slame, piljevine hrasta i pšeničnih mekinja (u odnosu 7:2:1), na sobnoj temperaturi i uz svakodnevno orošavanje najbrže rastao soj GL-I.

Plodonosna tela su ubrana u momentu kada više nisu imala beli obod, jer su tada potpuno sazrela i imala najveću količinu bioaktivnih materija. Ova plodonosna tela bila su tvrda i lakirana, tamno bordo do braon boje i prekrivena sporama boje rđe do braon boje.

Spore gljive *Ganoderma lucidum*. Različiti sojevi gljiva *Ganoderma lucidum* odgajeni pod laboratorijskim uslovima formirali su spore koje su se sakupljale na gornjoj površini plodonosnih tela, zbog čega su plodonosna tela izgledala kao da su posuta puderom riđe do braon boje. Kod soja *Ganoderma lucidum* GL-I spore su vretenaste, sa duplim zidovima, braon boje (Slika 1), a prosečne dimenzije spora su 6,2 x 11,3µ.

Forma karpofora "Jelenski rogovi". Pod poluindustrijskim uslovima odgajena je i gljiva *Ganoderma lucidum* GL-I koja ima formu tzv."jelenskih rogova". Matična kultura je pod sterilnim uslovima zasejana po celoj zapremini tegli od 5 kg u kojima su prethodno sterilisana zrna pšenice sa dodatkom CaSO₄. Ovako



Slika 1. Spore gljive *Ganoderma lucidum* - Spores of mushroom *Ganoderma lucidum*

zasejane tegle su zatim pokrivene filter papirom. Na taj način obezbeđena je veća koncentracija CO₂ u atmosferi u kojoj su se razvijali karpofori, što je neophodno za formiranje ovakvog oblika plodonosnih tela. Filter papir omogućava samo sporu razmenu gasova ali ne i slobodno strujanje vazduha, zbog čega nivo CO₂ može da bude i viši od 2%. Kao posledica ovako visoke koncentracije CO₂ formirano je izduženo plodonosno telo, tj. "jelenski rogovi". Od momenta zasejavanja matične kulture u tegle do potpunog formiranja plodonosnih tela prošlo je 25 dana, **Klaus**, 2004.

Karpofori u obliku tzv. "jelenskih rogova" mogli bi da budu vrlo interesantni jer su dosadašnja istraživanja pokazala da je ova forma plodonosnih tela bogatija bioaktivnim materijama od uobičajene forme.

Zaključak

Gljiva *Ganoderma lucidum* odgajena poluindustrijski je proizvedena na supstratu koji se sastojao od pšenične slame, piljevine hrasta i pšeničnih mekinja. Izbor komponenti koje ulaze u sastav supstrata direktno utiče na brzinu rasta kao i na sastav gljiva, tako da se promenom sastava supstrata može uticati i na medicinska svojstva ovih gljiva. Utvrđeno je da su plodonosna tela sazrela za 55-60 dana od momenta zasejavanja supstrata, a ubrana su u momentu kada više nisu imala beli obod, jer tada imaju najveću količinu bioaktivnih materija. Pod laboratorijskim uslovima odgajena je i gljiva *Ganoderma lucidum* koja ima formu tzv. "jelenskih rogova", za čije formiranje je neophodno obezbediti atmosferu sa koncentracijom CO₂ od oko 2%.

Imajući u vidu efekte gljive *Ganoderma lucidum* na ljudsko zdravlje, koji su hiljadama godina poznati ljudima na istoku, i istraživači sa zapada su se

zainteresovali za ovu gljivu, pa je ona postala predmet i savremenih kliničkih ispitivanja. Imena kao što su "Nebeska biljka" i "Gljiva Univerzuma", koja ova gljiva nosi, ukazuju na njenu sposobnost da obnavlja i pojačava vitalnost ljudi. S obzirom na to da se u prirodi retko nalazi, industrijska proizvodnja gljive *Ganoderma lucidum* bi mogla da bude od velikog značaja.

Literatura

- Hseu, R.S., H.H. Wang, H.F. Wang and J.M. Moncalvo** (1996): Differentiation and grouping of isolates of the *Ganoderma lucidum* complex by random amplified polymorphic DNA-PCR compared with grouping on the basis of internal transcribed spacer sequences- Appl. Environ. Microbiol. **62** (4): 1354-1363
- Klaus, A.** (2004): Proizvodnja i bioaktivna svojstva gljive *Ganoderma lucidum*, Magistarski rad, Poljoprivredni fakultet, Beograd.
- Molitoris, H.P.** (2001.): Mushrooms and man in medicine, myth and religion. International Journal of Medicinal Mushrooms **3** (2-3): 97.
- Smith, J., S. Rowan i R. Sullivan** (2002): Medicinal Mushrooms: Their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments, University of Strathclyde/Cancer Research, UK, www.adobe.com/products/acrobat/readstep.html.
- Stamets, P.** (1993): Growing Gourmet & Medicinal Mushrooms, 3rd edition, Ten Speed Press, Box 7123, Berkeley, California, USA
- Ting, G.H.** (1997): The Current Situation of Research and Cultivation of *Ganoderma lucidum*, ed. Beijing University of Chinese Medicine and Pharmacology, PR China.

Primljeno: 14.03.2008.

Odobreno: 01.04.2008.

* *
*

The Production of the Mushroom *Ganoderma lucidum*

- Original scientific paper -

Anita KLAUS and Miomir NIKŠIĆ

University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Belgrade-Zemun

Summary

The possibilities of growing of the medical mushroom *Ganoderma lucidum* under laboratory and half-industrial conditions were investigated in the present study. Under laboratory conditions, mycelia of investigated isolates were growing 9.2-13.5mm per day at 25°C. Half-industrially produced fruit bodies of *Ganoderma lucidum* mushrooms matured 55-60 days after inoculation. Under the half-industrial conditions special "antler-shaped" mushroom *Ganoderma lucidum* was grown, and its fruit bodies were entirely mature 25 days after inoculation.

Regarding the fact that the mushroom *Ganoderma lucidum* is very rare to be found the nature, and due to its extraordinary medical value, its industrial production of this mushroom could be very important.

Received: 14/03/2008

Accepted: 01/04/2008

Adresa autora:

Anita KLAUS

Poljoprivredni fakultet

Nemanjina 6, 1

1080 Beograd-Zemun

Srbija

E-mail: aklaus@agrifaculty.bg.ac.yu